ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DES SPERMOGONIES ET DE LA SPERMATOGENESE CHEZ QUELQUES URÉDINALES

par D. CODRON*

RÉSUMÉ. – Les spermogonies de *Puccinia malvacearum*, *Gymnosporangium cornutum*, *Uromyces erythronii* et *Melampsora rostrupii*, ont été étudiées. Dans ces quatre espèces les ultrastructures cellulaires sont très similaires. Les cellules contiguës de la paroi de la spermogonie communiquent entre elles par des ouvertures dépourvues de septum. Différents types de paraphyses ont été observés; des hyphes intrahyphales et des filaments flexueux issus de l'apex des sporophores sont décrits pour la première fois en microscopie électronique. Ces observations sont comparées avec d'anciennes descriptions réalisées en microscopie photonique. Les sporophores sont des cellules allongées, avec un noyau nucléolé, et un cytoplasme contenant de nombreux globules lipidiques mais peu de glycogène. Ils portent une collerette apicale pluristratifiée. Les spermaties sont entourées d'une paroi mince; elles contiennent chacune un noyau à chromatine dense, sans nucléole; le glycogène est absent de leur cytoplasme. Ces spermaties bourgeonnent au sommet du sporophore, à travers un col plus étroit entouré par la collerette. L'apex des ébauches de spermaties contient des microvésicules; leur paroi est synthétisée de novo, et se rattache à la couche interne de la paroi du sporophore. La délimitation de chaque spermatie se fait par le développement centripète d'un septum. Le septum est formé de deux couches polysaccharidiques séparées par une lamelle moyenne claire. Lors de son abscission, la spermatie entraîne les deux parois; la rupture de la couche externe du sporophore laisse une cicatrice annulaire à la base de la spermatie, et une collerette à l'apex du sporophore. L'ontogénèse des spermaties est comparée aux résultats récents concernant les conidiogénèses phialidiques et annellidiques. La spermatogénèse est considérée comme étant typiquement phialidique.

SUMMARY. – Spermogonies of *Puccinia malvacearum*, *Gymnosporangium cornutum*, *Uromyces erythronii* and *Melampsora rostrupii*, have been studied. Cellular ultrastructures are very similar in this four species. Component cells of the spermogonial wall are able to communicate by narrow isthmus between near cell walls. Several kinds of paraphyses have been observed; intrahyphal hyphae, and flexuous filaments growing out of sporophore

---

* Laboratoire de Botanique (Mycologie), École Normale Supérieure, Grille d'honneur, F 92211, Saint-Cloud.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE *(Cryptog., Mycol.)*, TOME 2 (1981).

apex are described for the first time by use of electron microscopy. These observations are compared with earlier descriptions of trichogynes in the light microscope. Sporophores are long slender cells, with one single nucleolate nucleus, numerous lipid bodies and few glycogen. They bear [redacted] apical multilayered collarette. Spermatia are bounded by [redacted] thin wall; each contains a single nucleus with condensed chromatin and without distinct nucleolus; glycogen is absent from the cytoplasm. Spermatia are extruded at the tips of sporophores, through [redacted] neck region surrounded by the collarette. Microvesicles are present at the apex of the budding sporophore. The bud wall is synthetised de novo and is bounded to the inner layer of the sporophore wall. Each spermatium is delimited by a centripetally developing septum. Mature septum consist of two walls separated by an electron lucent middle lamella. After spermatial secession, these two walls are carried off by the spermatium; the broken outer wall layer left remnants as a basal circular scar on the spermatium, and a new inner collarette on the sporophore. Spermatium ontogeny is compared to recent results concerning phialidic and annellidic conidiogenesis. It was concluded to be phialidic.

INTRODUCTION

Les Urédinales produisent précocement des fructifications subglobuleuses contenant des filaments dressés sporulant qui bourgeonnent à leur extrémité distale de petites spores ovoïdes uninucléées à paroi mince. La nature sexuelle de celles-ci a été démontrée pour la première fois par CRAIGIE (1927), chez le *Puccinia graminis*; on les [redacted] donc nommées spermaties, et les fructifications qui les contiennent sont appelées spermogonies.

Le mode de formation des spermaties a été observé pour la première fois par BLACKMAN (1904) chez le *Gymnosporangium clavariaeforme* : un septum se forme entre la spore et le sporophore, dont l'extrémité apicale possède un épaississement annulaire colorable par le Rouge Congo. Par la suite, OLIVE (1944) décrit chez *Gymnosporangium clavipes*, une collerette autour du sommet du sporophore où naissent par bourgeonnement des spores nues qui s'en séparent par une constriction basale. La sporogénèse des spermaties [redacted] fait seulement l'objet de trois études en microscopie électronique à transmission : chez le *Puccinia sorghi* (RIJKENBERG et TRUTER, 1974 a), chez le *Gymnosporangium juniperi-virginianae* (MIMS, SEABURY et THURSTON, 1976), chez le *Puccinia coronata* (HARDER et CHONG, 1978). Ces études ont confirmé que les spermaties étaient des spores uninucléées, pourvues d'une paroi, avec un cytoplasme pauvre en réserves, et montré que la collerette apicale des sporophores était formée de plusieurs collerettes insérées au même niveau.

Cependant les auteurs sont loin d'être unanimes sur l'interprétation de la sporogénèse. HUGHES (1970), se basant essentiellement sur les descriptions d'OLIVE (1944) en microscopie photonique, considère que la spermatogénèse des Rouilles est de type phialidique; MIMS, SEABURY et THURSTON (1976) arrivent à la même interprétation à la suite d'une étude en microscopie électronique. Mais selon RIJKENBERG et TRUTER (1974 a) le sporophore est un annellophore, tandis que selon HARDER et CHONG (1978), la sporogénèse,

bien que de type annellidique, présente cependant des caractères de type phialidique.

Le présent travail tente de lever ces incertitudes par l'étude de quatre espèces appartenant à des genres différents : *Puccinia malvacearum* Mont., *Gymnosporangium cornutum* Kern. (= *G. juniperinum*), *Uromyces erythronii* Pass., et *Melampsora rostrupii* Wagn.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les spermogonies du *Puccinia malvacearum* ont été récoltées au début du printemps, dans l'Ouest parisien, sur feuilles de *Malva silvestris*. Elles sont peu nombreuses et situées à la face supérieure des feuilles, à l'aplomb des jeunes téleutosores en début de développement (stade sous-épidermique). On sait en effet, depuis les observations de WATERHOUSE en 1952, que cette espèce, qui est normalement une microforme stricte, peut parfois porter des spermogonies. Les spermogonies d'*Uromyces erythronii* ont été collectées en mai sur *Erythronium dens-leonis* (Pyrénées Orientales - Forêt de Boucheville). Celles de *Melampsora rostrupii* ont été recueillies dans le Bassin Parisien sur les feuilles et pétioles de *Mercurialis perennis*, où elles sont abondantes au début du printemps. Enfin celles de *Gymnosporangium cornutum* ont été récoltées au début de l'été, sur feuilles de *Sorbus aucuparia*, en Auvergne.

Les fixations ont été faites sous vide partiel (glutaraldéhyde 4% dans un tampon cacodylate - pH 7,5; Tween 80 : 1% (5H); OsO_4 2% dans un tampon véronal pH 7,4 (2H). La déshydratation a été menée par l'alcool absolu et l'oxyde de propylène. L'imprégnation a été réalisée partiellement sous vide dans la résine de SPURR (1969). Les coupes ont été faites avec un ultramicrotome REICHERT, et colorées, soit au citrate de plomb, soit par la méthode P.A.T.Ag. (THIERY, 1967) qui révèle les liaisons β 1-4 des polysaccharides. Elles ont ensuite été examinées au moyen d'un microscope électronique à transmission JEOL JEM 7 sous tension de 80 K.V.

RÉSULTATS

La spermatogénèse du *Puccinia malvacearum*, étudiée avec plus de détail, sera présentée en premier lieu. Celle des trois autres espèces, d'un type analogue, lui sera ensuite comparée brièvement.

I. - *PUCCINIA MALVACEARUM*

a) Constitution des spermogonies

Les spermogonies subglobuleuses ou légèrement piriformes, incluses dans la feuille parasitée, s'ouvrent par un ostiole à la surface de celle-ci; limitées

par une paroi plectenchymateuse, elles contiennent des sporophores allongés radialement mêlés de filaments stériles. Ceux-ci sont plus abondants au sommet de la spermogonie et forment une couronne peri-ostiolaire de periphyses dressées et rigides. Par leur structure fortement concave, leur croissance limitée, et la présence de periphyses ostiolaires, ces spermogonies sont à classer dans le type IV de HIRATSUKA et CUMMINS (1963).

Les observations faites en microscopie électronique montrent que la paroi de la spermogonie est constituée d'hyphes allongées tangentiellement (fig. 1), cloisonnées en cellules uninucléées par des septums transversaux dépourvus de pore. Des ouvertures (0.5 à 1μm) peuvent exister entre les cellules de deux couches voisines (fig. 1).

Le cytoplasme de ces cellules, assez peu vacuolisé, contient de larges plages de glycogène, et de petits globules lipidiques. Les noyaux possèdent un nucléole. La paroi des hyphes qui est mince (60 nm), apparaît bistratifiée après la réaction P.A.T.Ag. Seule sa strate interne participe aux cloisons transversales des hyphes pariétales (fig. 2).

Les sporophores (fig. 3), longues cellules disposées radialement dans la spermogonie, sont portés par des cellules basales dont les caractères cytologiques sont analogues à ceux des cellules de la paroi de la fructification. Plusieurs sporophores peuvent être portés par la même cellule basale (fig. 1). Le septum qui les en sépare est dépourvu de pore. La paroi du sporophore est mince (50 à 60 nm), bistratifiée, avec une strate interne légèrement moins opaque aux électrons (fig. 4). Le cytoplasme, dense, riche en ribosomes (fig. 4) est peu vacuolisé (fig. 3). Le glycogène, qui est présent à la base du sporophore sous forme de petits amas, est totalement absent du reste du cytoplasme. On trouve de nombreux globules lipidiques, faiblement osmiophiles, mais réagissant positivement au test de Thiéry (fig. 3). Dans la partie supérieure du sporophore (fig. 5), le réticulum endoplasmique est formé de longs éléments. De nombreuses mitochondries, elles aussi très allongées, sont disposées parallèlement à l'axe du sporophore.

Les spermaties ont une forme ovoïde (4/2,5μm) (fig. 3 et 17). Leur noyau volumineux occupe la plus grande partie de la cellule. Il est dépourvu de nucléole, et sa chromatine très dense est disposée en réseau (fig. 17). Le cytoplasme très réduit qui entoure le noyau est riche en ribosomes. Il contient quelques petites mitochondries ovoïdes à crêtes bien développées et quelques globules lipidiques, mais il est dépourvu de glycogène (fig. 17). La paroi des spermaties, très mince, de structure apparemment homogène à maturité, a une épaisseur maximale de 50 nm.

Deux types de filaments stériles ont été observés dans les spermogonies :

- un premier type (ou paraphyses) est constitué par de larges hyphes, en apparence unicellulaires, mêlées aux sporophores (fig. 6, 7). Leurs gros globules lipidiques, peu osmiophiles (fig. 6), contiennent des sites réactifs au test de THIERY qui ne sont pas distribués de façon homogène, mais sont localisés en petits amas ou en liserés périphériques (fig. 7). Des travées de réticulum

endoplasmique, rectilignes et élargies, sont connectées à ces globules lipidiques et ont un contenu d'aspect analogue à ceux-ci (fig. 6, 7). Parfois des empilements de membranes sont accolés à ces travées (fig. 8).

- un second type de filaments stériles (fig. 9, 10) est représenté par des hyphes rectilignes implantées près de l'ostiole de la spermogonie (périphyses). Leur cytoplasme contient deux types de globules lipidiques : - les uns sont gros et osmiophiles; - les autres, plus petits et plus clairs, sont identiques à ceux des sporophores; de petites plages de matériel dense aux électrons (fig. 9, 10) s'observent parfois à leur périphérie ou juste à côté d'eux. Dans la mesure où le tétroxyde d'osmium montre surtout de l'affinité pour les lipides non saturés, on peut envisager l'existence d'une ségrégation entre lipides saturés et insaturés dans ces périphyses.

b) La sporogenèse

MODALITÉS GÉNÉRALES

Les spermaties naissent successivement en ordre basifuge, au sommet du sporophore (fig. 3). Elles sont formées à l'apex de celui-ci, au niveau d'un large pore entouré de plusieurs collerettes pariétales emboitées (fig. 3 et 11). La collerette la plus externe prolonge vers le haut la paroi du sporophore et possède la même structure. Les collerettes internes, plus minces, plus courtes, et très réactives au P.A.T.Ag., viennent se fondre en biseau à leur base dans la couche interne de la paroi du sporophore (fig. 11). L'ébauche d'une nouvelle spermatie est constituée par une extrusion uninucléée du contenu cytoplasmique du sporophore à travers le pore apical qu'entoure la collerette. Cette extrusion est recouverte sur toute sa surface par une paroi mince (fig. 11), de structure identique à celle des collerettes internes. A la base de l'extrusion, cette paroi s'amincit en biseau, en venant s'accoler à la face interne de la paroi du sporophore (fig. 11). L'ébauche s'accroit jusqu'à atteindre la taille d'une spermatie adulte. C'est alors seulement que la spermatie s'individualise à la suite de la formation d'un septum au niveau de l'insertion des collerettes préexistantes (fig. 14). De nombreuses observations réalisées sur différents septums, ont confirmé l'absence de pore à ce niveau. Une nouvelle ébauche conidiogène va ensuite s'organiser sous cette cloison transversale. Elle va se développer comme la spermatie précédente; et c'est seulement lorsqu'elle va à son tour être isolée par le développement d'un septum à sa base, que la spermatie initiale sera libérée.

CYTOLOGIE DE L'ÉBAUCHE SPOROGENE ET DE LA JEUNE SPERMATIE

La figure 14 montre **le début de l'organisation** d'une ébauche sporogène au sommet d'un sporophore, sous le septum qui a individualisé la spermatie précédente. On observe en particulier les prémisses de synthèse du matériel pariétal qui recouvrira ultérieurement l'ébauche : le réticulum endoplasmique se fragmente en vésicules et le plasmalemme montre de nombreux replis.

Ultérieurement, **l'ébauche sporale s'accroît et s'individualise** en faisant extrusion au sommet du sporophore au-dessus des collerettes (fig. 11). Dans le cytoplasme sommital de cette ébauche on observe alors des vésicules de 150μm de diamètre limitées par une membrane simple, qui contiennent des produits légèrement réactifs au test de THIÉRY, ainsi que des microvésicules de 20 à 30μm de diamètre. Dans l'étranglement qui sépare la base de l'ébauche sporale du sporophore sous-jacent, le cytoplasme est généralement riche en lipides (fig. 11).

C'est alors que le **noyau du sporophore** entre en division, après avoir migré vers le haut, depuis la partie basilaire du sporophore qu'il occupait précédemment (fig. 3). Au cours de cette division la membrane nucléaire persiste mais le nucléole disparait (fig. 13). Un fuseau de microtubules relie deux pôles du noyau, définis par une fossette de la membrane nucléaire. Un des noyaux issus de cette division migre dans l'ébauche sporale et ne reconstitue pas de nucléole; l'autre noyau où un nucléole réapparaît reste dans le sporophore et en rejoint la partie basilaire.

La spermatie s'individualise d'abord par la **formation d'un septum** à la base de l'ébauche sporogène (Tableau 1). Ce septum nait d'une invagination annulaire du plasmalemme du sporophore, qui s'accroît de façon centripète (fig. 12), et ferme complètement l'orifice apical de celui-ci (fig. 14). Entre ces deux membranes plasmiques ainsi formées se développent deux liserés de matériel

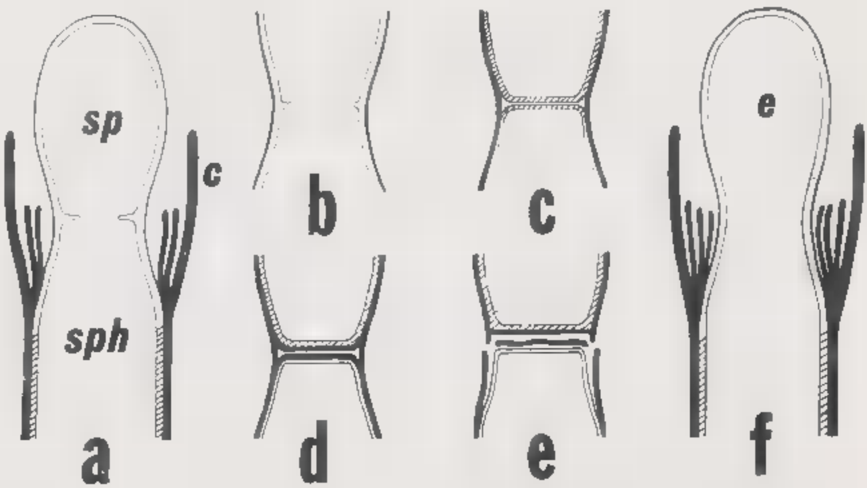


Tableau 1. – Schéma illustrant les mécanismes de délimitation et d'abscission d'une spermatie. - a: fin de la croissance sporogène et début de formation du septum; b: fermeture du septum; c: formation des couches septales et de la lamelle moyenne; d: différenciation des parois septales; e: abscission; f: croissance d'une nouvelle ébauche. (*e:* ébauche; *c:* collerette; *sp.:* spermatie; *sph.:* sporophore).

pariétal riche en polysaccharides, qui restent séparés l'un de l'autre par une très mince lamelle moyenne toujours d'aspect clair après la réaction de THIÉRY (fig. 15). Dans sa partie périphérique, au contact de la couche externe de la paroi du sporophore, cette lamelle s'épaissit et présente sur les coupes une section triangulaire. Le liseré de matériel pariétal qui [redacted] trouve du côté sporal, vient se raccorder en biseau avec la partie la plus interne de la paroi de la spermatie (fig. 15). Il constituera la paroi basale de la future spermatie, après s'être épaissi comme en témoignent les nombreuses petites invaginations du plasmalemme sporal à son contact (fig. 17), et s'être différencié en deux couches, reconstituant ainsi une structure pariétale identique à celles des parois latérales et sommitales de la spermatie. Quant au dépôt pariétal qui se trouve du côté du sporophore, il reste étroitement appliqué contre la lamelle moyenne claire, tandis qu'au-dessous de lui [redacted] constitue une paroi élaborée par la nouvelle ébauche sporogène sous-jacente (fig. 15, 16).

L'abscission de la spermatie se réalise par la succession de plusieurs phénomènes qui se télescopent plus ou moins dans le temps et qu'on peut résumer ainsi (cf. tableau 1) :

a) rupture de la strate externe pariétale reliant spermatie et sporophore, au niveau de l'épaississement périphérique à section triangulaire de la lamelle moyenne du septum (fig. 15).

b) croissance de l'ébauche nouvelle sous-jacente provoquant un décollement basipète de la strate externe qui donne naissance à une collerette; en même temps, une paroi se reconstitue sur les flancs et le sommet de l'ébauche (fig. 16).

c) séparation entre la spermatie et l'ébauche sous-jacente, non pas au niveau de la lamelle moyenne, mais entre la couche pariétale inférieure du septum, et la nouvelle paroi de l'ébauche sous-jacente (fig. 11).

d) la couche pariétale inférieure disparaît rapidement; par contre la cicatrice en anneau laissée sur la base de la spermatie par la rupture de la strate externe persiste plus longtemps.

La spermatogénèse se réalise donc en quatre temps :

- développement d'une ébauche accompagnée d'une croissance pariétale,
- individualisation de la spermatie à partir de l'ébauche d'un septum transversal,
- maturation de la spermatie tandis que se développe une nouvelle ébauche,
- abscission de la spermatie.

LA PREMIERE SPERMATIE

Toutes les études relatives à la spermatogénèse qui viennent d'être exposées ont été faites dans des spermogonies mûres qui s'appliquent à des spermaties d'ordre n. On peut se demander si les mécanismes sont identiques lors de la formation de la première spermatie. Quelques observations (fig. 18, 19), réalisées sur de jeunes sporophores, permettent d'envisager le mécanisme de formation de cette première spermatie. Elle s'ébauche dans la partie apicale du sporophore et s'y individualise par un septum transversal, avant que la paroi du sommet du sporophore se rompe. Cette rupture n'intervient semble-t-il, qu'au

moment de la croissance de l'ébauche d'une seconde spermatie sous-jacente, et se fait de façon annulaire au niveau de la base de la première spermatie. La partie apicale de la paroi du sporophore qui coiffe la première spermatie est alors entraînée avec celle-ci (fig. 18). La première collerette est constituée par la strate externe très différenciée de la paroi du sporophore, décollée au niveau de la deuxième spermatie. C'est toujours au niveau du premier septum que s'établiront les septums successifs.

La première spermatie ne nait donc pas d'un bourgeonnement apical du sommet du sporophore. C'est le sommet de celui-ci qui se comporte comme l'ébauche d'une spermatie à la base de laquelle s'établit un septum.

II. - AUTRES ESPECES

a) Constitution des spermogonies

Par leur morphologie générale, les spermogonies du *Gymnosporangium cornutum* et de l'*Uromyces erythronii* sont aussi à classer dans le groupe IV de HIRATSUKA et CUMMINS (1963). Par contre celles du *Melampsora rostrupii*, qui sont sous-épidermiques et dont l'hyménium est plat et dépourvu de paraphyses, appartient au groupe II.

Chez les trois espèces étudiées, les cellules de la paroi des spermogonies ont des caractères analogues à ceux du *Puccinia malvacearum*.

Chez le *Melampsora rostrupii* les sporophores sont ramifiés en cymes (fig. 28), comme ceux du *Melampsora lini*, étudiés en microscopie à balayage par GOLD et LITTLEFIELD (1979). Chaque ramification uninucléée fonctionne comme une cellule sporogène. Elle est moins riche en globules lipidiques que le sporophore du *P. malvacearum* et surtout de l'*Uromyces erythronii* où les lipides sont très abondants (fig. 26). Dans cette dernière espèce, la vacuolisation du cytoplasme du sporophore, d'abord localisée à la base, gagne progressivement l'apex au cours du vieillissement du sporophore et peut même atteindre les ébauches des spermaties (fig. 27). De petites vacuoles sphériques de plus en plus nombreuses apparaissent sans jamais fusionner en larges vacuoles. Simultanément les mitochondries deviennent courtes, avec une matrice hyaline.

Dans le matériel de *Gymnosporangium cornutum* qui a été examiné, les paraphyses présentent un aspect très particulier, en ce sens qu'elles sont constituées par plusieurs générations emboîtées d'hyphes intrahyphales (fig. 24, 25) présentant une certaine rigidité et une paroi épaisse, fortement réactive au test des polysaccharides. Le cytoplasme de l'hyphe de dernière génération est très riche en lipides (fig. 25). On observe également chez cette même espèce, des filaments longs et étroits, à paroi mince, dont les caractères cytologiques sont analogues à ceux des sporophores (fig. 23), mais qui s'établissent au sommet de ceux-ci à la manière de spermaties. Leur croissance est indéfinie et il n'y a pas de septum transversal au niveau des collerettes. Leur existence atteste qu'une cellule d'abord sporogène peut ensuite cesser de l'être pour engendrer

des filaments de type mycélien.

b) Modalités de la sporogénèse

Chez ces trois espèces, la structure cytologique des spermaties et la sporogénèse, sont très voisines de celles décrites chez l'espèce précédente (cf. fig. 20, 21, 22, 26, 27, 28). Seules quelques particularités méritent d'être signalées :

- ainsi le *Melampsora rostrupii* montre une collerette massive (fig. 29, 30), mais dans laquelle on distingue cependant une stratification, indice de l'existence de collerettes successives coalescentes.

- chez le *Gymnosporangium cornutum*, la chromatine du noyau des spermaties est particulièrement condensée; celle du noyau du sporophore passe aussi par un stade de forte densité au cours de l'interphase (fig. 20).

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

On discutera tout d'abord les faits relatifs à la cytologie générale des différents types cellulaires; l'interprétation du type de sporogénèse sera ensuite envisagée.

a) Cytologie générale

LA PAROI DES CELLULES de la fructification nous est apparue bistratifiée. Ceci n'est cependant pas en contradiction avec les observations de RIJKENBERG et TRUTER (1974 a) qui décrivent trois couches dans la paroi chez *Puccinia sorghi*, dans la mesure où ces auteurs interprètent le gélin intercellulaire comme une couche commune aux différentes cellules. Par contre, aucune des quatre espèces étudiées ici ne montre les pores septaux munis de bouchons en poulie indiqués par cet auteur. Nous avons pu observer cependant un tel type de pore dans le mycélium d'*Uromyces ficariae*. Ceci laisserait supposer que ces structures pourraient apparaître, soit dans certaines conditions de milieu, soit à des stades précis du développement des Rouilles.

De larges ouvertures, analogues à celles qui ont été signalées entre les cellules à la base des jeunes écies (RIJKENBERG et TRUTTER, 1974 b), font communiquer les cellules des différentes couches de la paroi. Impliquent-elles des migrations nucléaires dans la paroi des spermogonies?

LES PARAPHYSES

Les inclusions allongées, à contenu clair, des paraphyses de *Puccinia malvacearum* présentent certaines analogies avec des types d'inclusions rencontrées dans d'autres cellules stériles d'Urédinales, soit dans les urédies (HARDER, 1976, chez le *Puccinia coronata*; HASSAN et LITTLEFIELD, 1979, chez le *Melampsora lini*) soit dans les télies (MIMS, 1977, chez le *Gymnosporangium*

juniperi virginianae). Selon HASSAN et LITTLEFIELD (1979), le contenu de ces inclusions, après destruction cellulaire participerait à l'élaboration du revêtement des urédospores et des téleutospores. Pour ce qui est des spermogonies, cette explication ne convient évidemment pas; mais ne peut-on envisager que ces inclusions, liées ici aux globules lipidiques, soient associées au métabolisme du carotène? En effet l'aspect de ces inclusions rappelle les figures de carotène décrites par SCHRANTZ chez *Ciliaria* (1965) et par EYME et PARRIAUD chez un *Clathrus* (1970), où ce pigment se présente sous forme de plaques ou de baguettes irrégulières, transparentes aux électrons et associées à des membranes.

LES FILAMENTS FLEXUEUX

L'étude en microscopie électronique montre que les filaments flexueux qui émergent de l'ostiole des spermogonies sont de deux types. Les uns sont des hyphes nées à l'apex du sporophore à la manière des spermaties, mais leur croissance est illimitée. Les autres sont des hyphes intrahyphales nées probablement de paraphyses vidées. En microscopie optique, BULLER (1950) avait déjà signalé que des hyphes flexueuses pouvaient provenir de trichomes ostiolaires âgés. D'autre part PAYAK (1956) signale chez *Scopella gentilis* des filaments récepteurs issus de sporophores modifiés subissant un fort allongement. Nos observations montrent que ces éléments flexueux ne présentent pas de particularités cytologiques notables par rapport aux paraphyses ou aux sporophores. A peine note-t-on une plus grande abondance des lipides. Par suite, il est douteux qu'ils puissent être assimilés à des trichogynes. On observe donc un phénomène général de reprise de croissance, menant à la formation d'hyphes intrahyphales. Ce phénomène peut même intéresser des cellules qui étaient préalablement sporogènes.

LES SPERMATIES

Contrairement aux autres types de spores d'Urédinales, elles n'ont aucun caractère de spore de résistance: leur paroi mince ne présente pas de différenciation; leur cytoplasme qui contient peu de mitochondries et de lipides est dépourvu de glycogène. Le caractère de gamète qui leur est généralement prêté s'accorde bien avec la minceur de la paroi et la présence d'un noyau à chromatine très condensée (cf. MIMS, SEABURY et THURSTON, 1976, chez *Gymnosporangium juniperi-virginianae*), occupant un volume important de la spore et dépourvu de nucléole.

L'ÉBAUCHE SPOROGÈNE

La présence d'amas vésiculaires, analogues à ceux qui sont signalés à l'extrémité des hyphes et qui sont l'indice de leur croissance apicale (GROVE et BRACKER, 1970), n'ont pas jusqu'à présent été décrits à l'apex d'une ébauche sporogène en croissance chez les Urédinales. Elles ont cependant été observées dans divers éléments sporogènes chez d'autres champignons: blastospores d'*Oedocephalum roseum* (COOK, 1972); première conidie de *Phialocephala dimorphospora* (CAROLL et CAROLL, 1974); diverses basides (OLAH, COLE

et REISINGER, 1977). Les amas hétérogènes de vésicules suggèrent que plusieurs types vésiculaires peuvent être utilisés lors du transport, vers la paroi apicale de l'ébauche sporogène, d'enzymes et de matériaux participant à son édification (MEYER, PARISH et HOHL, 1976).

b) Modalités de la sporogenèse

La spermatogénèse des Urédinales est de type phialidique. Elle présente en effet tous les caractères qui sont ceux admis par COLE et SAMSON (1979) pour définir ce type de développement (cf. tab. 2). Cette conclusion est aussi en accord avec l'interprétation de MIMS, SEABURY et THURSTON (1976) basée sur l'étude du *Gymnosporangium juniperi-virginianae*, mais elle paraît en contradiction avec l'interprétation de RIJKENBERG et TRUTER (1974 a) concernant le *Puccinia sorghi*. Ces auteurs, en se référant aux travaux de SUTTON et SANDHU (1969) portant sur le genre *Cryptosporiopsis*, considèrent en effet que la spermatogenèse de *Puccinia sorghi* est de type annellidique. Cependant, à propos justement du *Cryptosporiopsis* chez lequel on observe des annellations endogènes à l'intérieur d'une collerette, COLE et SAMSON (1969) indiquent : «Ces annellations étant simplement plus nettes et plus séparées que les lamellations concentriques trouvées dans la collerette des phialides, il est contestable d'utiliser cette différence quantitative pour justifier l'appartenance de cette espèce au type annellide». Ces auteurs précisent ensuite la différence entre annellide et phialide en faisant intervenir deux critères : 1) celui de la liaison (ou de l'absence de liaison) entre les couches internes et externes de la paroi du conidiophore; 2) celui de l'extensibilité (ou de l'inextensibilité) de ces couches («set wall» et «unset wall» de DA RIVA RICCI et KENDRICK, 1972). Quel que soit le type de conidiogénèse, la paroi externe, inextensible, se rompt dans tous les cas lors de la formation de la première conidie (cf. tab. 3).

	Annellide	Phialide
1ère conidie	La paroi se rompt à la base de la 1ère conidie formée en laissant une annellation.	La paroi se rompt en un point quelconque au-dessus du septum basal, laissant une collerette.
Conidies d'ordre n	Proliférations percurrentes du sommet du conidiophore après formation de chaque conidie, laissant des annellations.	Pas d'élongation détectable de l'apex du conidiophore ; la sécession de chaque conidie laisse une succession de couches emboîtées internes, parallèles à la 1ère collerette.
Septum	Pore avec corps de Woronin.	Septums souvent complet. Pas de corps de Woronin.

Tableau 2. — Différences entre les développements annellidiques et phialidiques (d'après COLE et SAMSON, 1979).

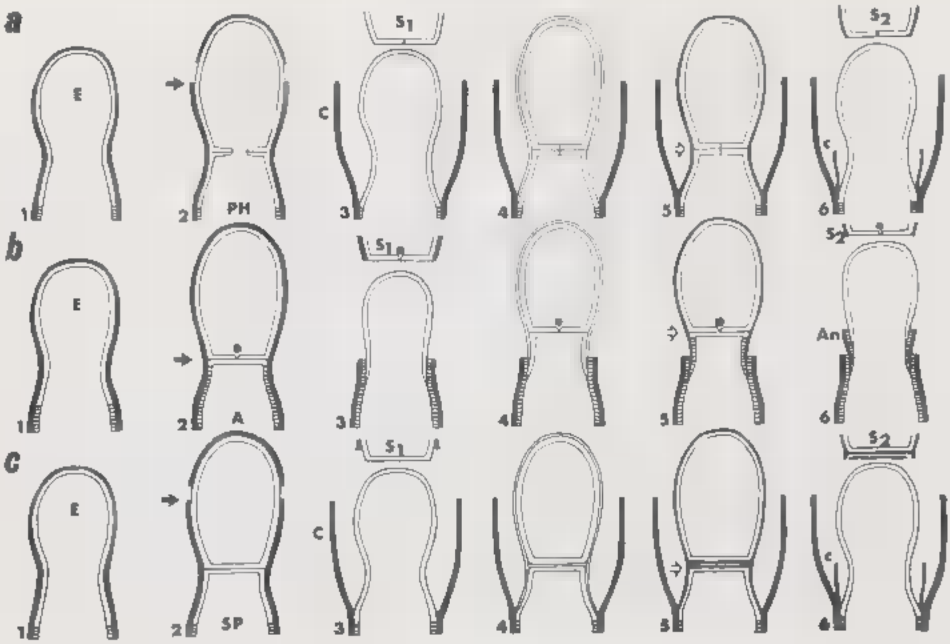


Tableau 3. — Schémas des mécanismes de base de la conidiogénèse et des différenciations pariétales, associés aux formations des phialospores (a), des annellospores (b), et des spermaties (c); (a et b en partie d'après COLE et SAMSON, 1979).

1: ébauche (E) de la première spore. 2: délimitation de cette spore par un septum basal; PH: phialide; A: annellide; SP: sporophore à spermaties; la flèche souligne le lieu de la première rupture de la paroi externe inextensible. 3: libération de la première spore (S_1); décollement de la collerette (C) chez les phialides et les sporophores. 4: formation et délimitation de la deuxième spore. 5: différenciation de la paroi de la spore; la flèche indique le lieu de rupture de la couche externe. 6: libération de la deuxième spore (S_2), avec formation d'une collerette interne (c) chez les phialides et les sporophores à spermaties, et d'une nouvelle annellation (An) chez les annellides. (les parois inextensibles sont figurées en noir; les parois internes liées à la paroi externe, en hachures).

Deux cas sont ensuite possibles : 1) si la paroi interne du conidiophore participe à la formation de la paroi sporale, il y a glissement et décollement de cette paroi interne par rapport à la paroi externe, et une collerette se constitue (Tab. 3, a). 2) si au contraire, la paroi interne reste liée à la paroi externe, c'est tout l'ensemble de la paroi qui se rompt, avec formation d'une annellation (Tab. 3, b). Or d'après les descriptions de RIJKENBERG et TRUTER (1974 a), c'est bien le premier cas qui est réalisé, et par la suite la spermatogénèse du *Puccinia sorghi* doit être considérée comme phialidique.

HARDER et CHONG (1978) reconnaissent chez *Puccinia coronata* certains caractères phialidiques au développement des spermaties, mais considèrent

finalement qu'il est de type annellidique en raison du mode de formation holoblastique des spores. Or on sait depuis les observations de HANLIN (1976) faites sur l'*Aspergillus clavatus*, de type nettement phialidique, que la formation de la première conidie est holoblastique. On a constaté d'ailleurs depuis, qu'il en était ainsi chez les phialidiques en général (COLE et SAMSON, 1979). D'autre part les figures présentées par HARDER et CHONG correspondant aux formations des conidies d'ordre n, montrent que la paroi du bourgeon sporal provient de l'extension de la couche interne de la paroi de la cellule conidiogène. On sait maintenant qu'il en est ainsi dans tous les types de conidiogénèses (ROQUEBERT, 1980). Ces spermaties sont donc entéroblastiques au sens actuel de ce terme. Par suite il faut considérer que le *Puccinia coronata* correspond en fait à un type phialidique.

Il apparaît donc que ce sont des imprécisions et des glissements de sens donnés à divers termes se rapportant aux modalités de la sporogénèse, qui sont à l'origine des contradictions relevées dans les interprétations présentées par les différents auteurs. Comme on vient de le voir, l'analyse des faits montre que les contradictions ne sont qu'apparentes et que la spermatogénèse est du même type chez les différents genres d'Urédinales étudiées jusqu'à présent. Dans tous les cas la spermatogénèse présente en effet les modalités suivantes (Tab. 3, c) :

- La formation de la première spermatie est holoblastique puisqu'il y a rupture de la paroi du sporophore après la formation de la spore.

- Cette rupture forme une première collerette, élément typique des phialides (COLE et SAMSON, 1979).

- Lors de la libération de chaque spermatie, la couche externe de la paroi du sporophore se rompt puis se décolle en partie de la couche interne en constituant une nouvelle collerette. L'apposition des collerettes successives détermine la formation locale d'un épaississement pariétal à développement centripète qui provoque le resserrement du col du spermatophore (goulot).

- Des septums délimitant les spermaties successives s'établissent toujours au même niveau, ce qui est aussi un caractère fondamental de phialides (ROQUEBERT, 1980).

Par rapport au développement de type phialidique classique on observe, dans le cas de la spermatogénèse des Urédinales, une rupture et un abandon de la couche proximale du septum sous-jacent à la conidie au moment de sa libération (cf. tab. 1, e). Ce fait, qui a d'ailleurs déjà été signalé par RIJKENBERG et TRUTER (1974, a), peut être rapproché du mode d'abscission avec clivage asymétrique du septum, observé chez l'anamorphe de *Gnomonia leptostyla* (ROQUEBERT, 1980). Dans le cas des spermaties il semble que la différenciation, qui atteint la paroi externe du sporophore à la fin de la formation d'une conidie, qui provoque son inextensibilité et de ce fait sa rupture lors de l'abscission de la spore, gagne aussi la paroi septale nouvellement formée. Cette paroi n'est donc pas intégrée, même partiellement, dans la paroi apicale en croissance de la spermatie suivante. Elle est abandonnée par la spermatie

lors de son abscission, tout comme une partie de la paroi externe latérale est abandonnée pour former la collerette.

c) Conclusion

Chez le type phialidique comme chez le type annellidique la séquence des évènements qui interviennent au cours de l'individualisation d'une conidie d'ordre n est la même. Elle comporte (cf. tab. 3, a, b).

a - Individualisation d'un point de croissance.
b - Croissance apicale à partir de ce point.
c - Effacement de la zone de croissance apicale et expansion de cette zone en une conidie (croissance blastique).
d - Formation d'un septum à la base de la conidie.
e - Autonomie et différenciation de la conidie suivies éventuellement de sa libération.
a' - Nouvelle individualisation d'un point de croissance sous le septum précédemment formé.

On observe donc, dans les deux types de conidiogénèse, l'existence transitoire d'un point de croissance, suivi de la reconstitution de celui-ci à un niveau sous-jacent. impliquant une différenciation de la région à caractère mycélien située sous le septum précédemment formé.

Cependant deux différences importantes peuvent être notées entre les conidiogénèses phialidiques et annellidiques :

- au niveau de la zone de reprise de croissance, on observe, chez les phialides, une tendance au décollement basipète de la paroi externe, la paroi interne plastique étant à ce niveau largement utilisée lors de cette reprise de croissance. Ce décollement n'intervient pas dans le type annellidique. On rejoint ici la remarque de COLE et SAMSON (1979) concernant les parois liées et non liées.

- chez le type phialidique encore, toute la partie mycélienne engendrée par la reprise de croissance est impliquée dans la transformation conidienne; le nouveau septum va donc se reformer au même niveau que le précédent. Chez les annellides, par contre, la transformation conidienne n'affecte que la zone distale de la partie accrue. Le nouveau septum s'établit donc à un niveau qui est supérieur à celui du septum précédent. Il subsiste de ce fait une sorte de soubassement végétatif à la conidie, et c'est au niveau de celui-ci que va se reconstituer le nouveau point de croissance.

Les **annellides** sont donc caractérisées d'une part par cette croissance végétative qui produit plus de matériel cellulaire qu'il n'en faut pour l'édification d'une conidie, et d'autre part par une extension basipète moindre ou nulle du décollement de la paroi externe du conidiophore par rapport à la paroi interne au moment de la reprise de croissance. On constate donc une avance acropète des lieux d'établissement de la morphogénèse conidienne, phénomène lié à la persistance de la croissance végétative.

Chez les **phialides**, par contre, un «locus conidiogène stable» a souvent été

décrit. Cette impression résulte d'une régulation remarquablement équilibrée entre les processus de croissance et les processus d'individualisation du septum et de la cellule conidiogène. Le contrôle de cette régulation semble moins strict chez les annellides. La modulation des processus dont il vient d'être question est pour une large part à l'origine de la diversité des types de sporogénèse. Les variations des contraintes externes du milieu, naturelles ou expérimentales, peuvent intervenir dans cette modulation (WANG, 1979). L'étude approfondie des mécanismes d'action de celles-ci sur la conidiogénèse devrait permettre des progrès dans la connaissance de l'enchaînement des processus métaboliques qui régissent la sporogénèse.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement pour ses suggestions M. le Professeur BELLEMERE qui a bien voulu relire le texte de cet article. Nos remerciements vont aussi à Mme MALHERBE et Mme CHACUN pour leur assistance technique, et à Mme RODIER pour la frappe du manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

BLACKMAN V.H., 1904 — On the fertilization, alternation of generations, and general cytology of the Uredineae. *Ann. Bot. Lond.* 18: 323-373.

BULLER A.H.R., 1950 — Researches on fungi. VII. Univ. of Toronto Press., 458 p.

COLE G.T. & SAMSON R.A., 1979 — Patterns of development in conidial fungi. Pitman Publishing limited, London.

DA RIVA RICCI D. & KENDRICK W.B., 1972 — Computer modelling of hyphal tip growth in fungi. *Can. J. Bot.* 50: 2455-2462.

CARROLL G.C. & CARROLL F.E., 1974 — The fine structure of conidium development in *Phialocephala dimorphospora. Can. J. Bot.* 52: 2119-2128.

COOK B.E., 1972 — The distribution and role of cytoplasmic membrane-bounded vesicles during the development of botryose solitary blastospores of two fungi. *New Phytol.* 71: 1135-1141.

CRAIGIE J.H., 1927 — Discovery of the function of the pycnia of the rust fungi. *Nature* 120: 765-767.

EYME J. & PARRIAUD H., 1970 — Au sujet de l'infrastructure des hyphes de *Clathrus cancellatus* Tourn., Champignon gastéromycète. *C. R. Acad. Sci.* 270: 1890-1892.

GOLD R.E. & LITTLEFIELD L.J., 1979 — Light and scanning electron microsocoy of the telial, pycnial, and aecial stages of *Melampsora lini. Can. J. Bot.* 57: 629-638.

GROVE S.N. & BRACKER C.E., 1970 — Protoplasmic organisation of hyphal tips among fungi : Vesicles and Spitzenkorper. *J. Bacteriol.* 104: 989-1009.

HANLIN R.T., 1976 — Phialide and conidium development in *Aspergillus clavatus. Amer. J. Bot.* 63: 144-155.

HARDER D.E., 1976 — Electron microscopy of urediospore formation in *Puccinia coro-*

nata avenae et *P. graminis avenae*. *Can. J. Bot.* 54: 1010-1019.

HARDER D.E. & CHONG J., 1978 — Ultrastructure of spermatium ontogeny in *Puccinia coronata avenae*. *Can. J. Bot.* 56: 395-403.

HASSAN Z.M. & LITTLEFIELD L.J., 1979 — Ontogeny of the uredium of *Melampsora lini*. *Can. J. Bot.* 57: 639-649.

HIRATSUKA Y. & CUMMINS G.B., 1963 — Morphology of the spermogonia of the rust fungi. *Mycologia* 55: 487-507.

HUGHES S.J., 1970 — Ontogeny of spore forms in the Uredinales. *Can. J. Bot.* 48: 2147-2157.

MEYER R., PARISH R.W. & HOHL H.R., 1976 — Hyphal tip growth in *Phytophtora*. *Arch. Microbiol.* 110: 215-224.

MIMS C.W., 1977 — Ultrastructure of teliospore formation in the cedar-apple rust fungus *Gymnosporangium juniperi-virginianae*. *Can. J. Bot.* 55: 2319-2329.

MIMS C.W., SEABURY & THURSTON E.L., 1976 — An ultrastructural study of spermatium formation in the rust fungus *Gymnosporangium juniperi-virginianae*. *Am. J. Bot.* 63: 997-1002.

OLAH G.M., COLE G.T. et REISINGER O., 1977 — Le rôle et la nature chimique des micro-vésicules secrétoires dans l'apex hyphal et dans les cellules sporogènes. *Ann. Sc. Nat. Bot. et Biol. Vég.* 18: 301-318.

OLIVE L.S., 1944 — Spermatial formation in *Gymnosporangium clavipes*. *Mycologia* 36: 211-214.

PAYAK M.M., 1956 — A study of the pycnia, flexuous hyphae, and nuclear migrations in the ecia of *Scopella gentilis*. *Bot. Gaz.* 118: 37-42.

RIJKENBERG F.H.J. & TRUTER S.J., 1974 a — The ultrastructure of sporogenesis in the pycnial stage of *Puccinia sorghi*. *Mycologia* 66: 319-326.

RIJKENBERG F.H.J. & TRUTTER S.J., 1974 b — The ultrastructure of the *Puccinia sorghi* aecial stage. *Protoplasma* 81: 231-245.

ROQUEBERT M.F., 1980 — Analyse des phénomène pariétaux au cours de la conidiogénèse chez quelques champignons microscopiques. Thèse Muséum Nat. et Fac. Sc. Paris.

SCHRANTZ J.P., 1965 — Étude au microscope électronique de la localisation des pigments caroténoïdes chez un Discomycète : *Ciliaria hirta* (Schum.) Boudier. *Rev. Cytol. et Biol. Vég.* 28: 31-34.

SPURR A.R., 1969 — A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultr. Res.* 26: 41-43.

SUTTON B.C. & SANDHU D.K., 1969 — Electron microscopy of conidium development and secession in *Cryptosporiopsis sp.*, *Phoma fumosa*, *Melanconium bicolor*, and *M. apiocarpum*. *Can. J. Bot.* 47: 745-749.

THIÉRY Y.P., 1967 — Mise en évidence des polysaccharides sur coupe fine en microscopie électronique. *J. Microscopie* 6: 987-1018.

WANG C.J.K., 1979 — Pleomorphic Fungi Imperfecti. In «The Whole Fungus», 1, Kendrick B., ed. Ottawa.

WATERHOUSE W.L., 1952 — A note on an unusual spore form in *Puccinia malvacearum* Bert. *Proc. Linnean. Soc. New South Wales* 77: 263.

LÉGENDE DES FIGURES

Abréviations :

E: ébauche sporogène; C, C_1, Cn : collerettes; L : gros globules lipidiques; P: paraphyses; S: septum; V: grandes vésicules.

ch: chromatine; f: fuseau; g: glycogène; h.i : hyphes intrahyphales; li: lipides; m: mitochondries; n: noyau; nu: nucléoles; p: paroi; re: reticulum endoplasmique; sp: spore; sph: sporophore; v: petites vésicules; va: vacuole.

Échelle :

L'unité de mesure des échelles est le micron. Les traits représentent 1 micron, sauf sur les figures 8, 14, 15, 16, 26, 28, où la valeur de l'échelle est indiquée sur celles-ci.

Colorations :

Acétate d'Uranyle et Citrate de plomb : (Ur, Pb). Test de Thiéry : (P.A.T.Ag.).

Planche I

Puccinia malvacearum. — 1: Partie basilaire d'une spermogonie, avec les cellules de la paroi de la fructification et les bases des sporophores. Remarquer: les communications intercellulaires dans la paroi (astérisques); l'implantation de plusieurs sporophores sur une même cellule basale (flèches) (P.A.T.Ag.). 2: Détail d'un septum entre des cellules de la paroi de la spermogonie; seule la strate interne de la paroi des deux cellules participe au septum (flèche) (P.A.T.Ag.). 3: Vue générale d'un sporophore portant une ébauche sporogène surmontée d'une spermatie (P.A.T.Ag.). 4: Noyau du sporophore avec chromatine diffuse et nucléole très réactif (Ur, Pb.). 5: Détail du cytoplasme de deux sporophores contigus montrant les travées de réticulum endoplasmique (flèches), les mitochondries allongées et les globules lipidiques (P.A.T.Ag.).

Planche II

Puccinia malvacearum. - 6: Paraphyse; les éléments du réticulum endoplasmique montrent des dilatations; leur contenu a un aspect voisin de celui des lipides (Ur, Pb). 7: Paraphyse; (les globules lipidiques ont un liseré périphérique réactif au P.A.T.Ag.) (flèches). 8: Empilements membranaires contigus le long des éléments de réticulum endoplasmique dilatés (Ur, Pb). 9: Périphyse contenant deux types de globules lipidiques; on observe une ségrégation de produits osmiophiles dans les petits globules (flèches) (Ur, Pb). 10: Périphyse; les produits osmiophiles sont maintenant externes aux globules lipidiques (Ur, Pb).

Planche III

Puccinia malvacearum. — Sporogénèse. 11: Ébauche spermatogène; remarquer: la différence de structure entre la 1ère collerette C_1 et les suivantes Cn, le flux basifuge de globules lipidiques, les deux types de vésicules apicales, la sécession de la spermatie (flèche) par abandon de la partie inférieure du septum (astérisque) (P.A.T.Ag.). 12: Jeune septum encore annulaire (Ur, Pb). 13: Division du noyau du sporophore; les astérisques marquent les fossettes membranaires au niveau des pôles fusioraux (Ur, Pb). 14: Désarticulation du réticulum endoplasmique (flèches) et replis du plasmalemme (astérisques) au sommet du sporophore, sous le septum (P.A.T.Ag.). 15: Septum formé d'une lamelle moyenne, claire, et de deux couches pariétales réactives; la flèche indique la localisation du début de la zone de rupture de la paroi latérale (P.A.T.Ag.). 16: Rupture de la paroi latérale; la couche inférieure réactive du septum est entraînée avec la spermatie (P.A.T.Ag.).

Planche IV

Puccinia malvacearum. – 17: Spermatie; la flèche souligne l'exocytose de vésicules en relation avec un léger épaississement de la paroi interne chez la jeune spermatie; remarquer la richesse en ribosome (Ur, Pb). 18: Libération des premières spermaties; la spermatie de tête est coiffée par l'ancienne paroi du sporophore (flèches) (P.A.T.Ag.). 19: Restes de la paroi apicale fragmentée du sporophore autour des premières spermaties (P.A.T.Ag.).

Planche V

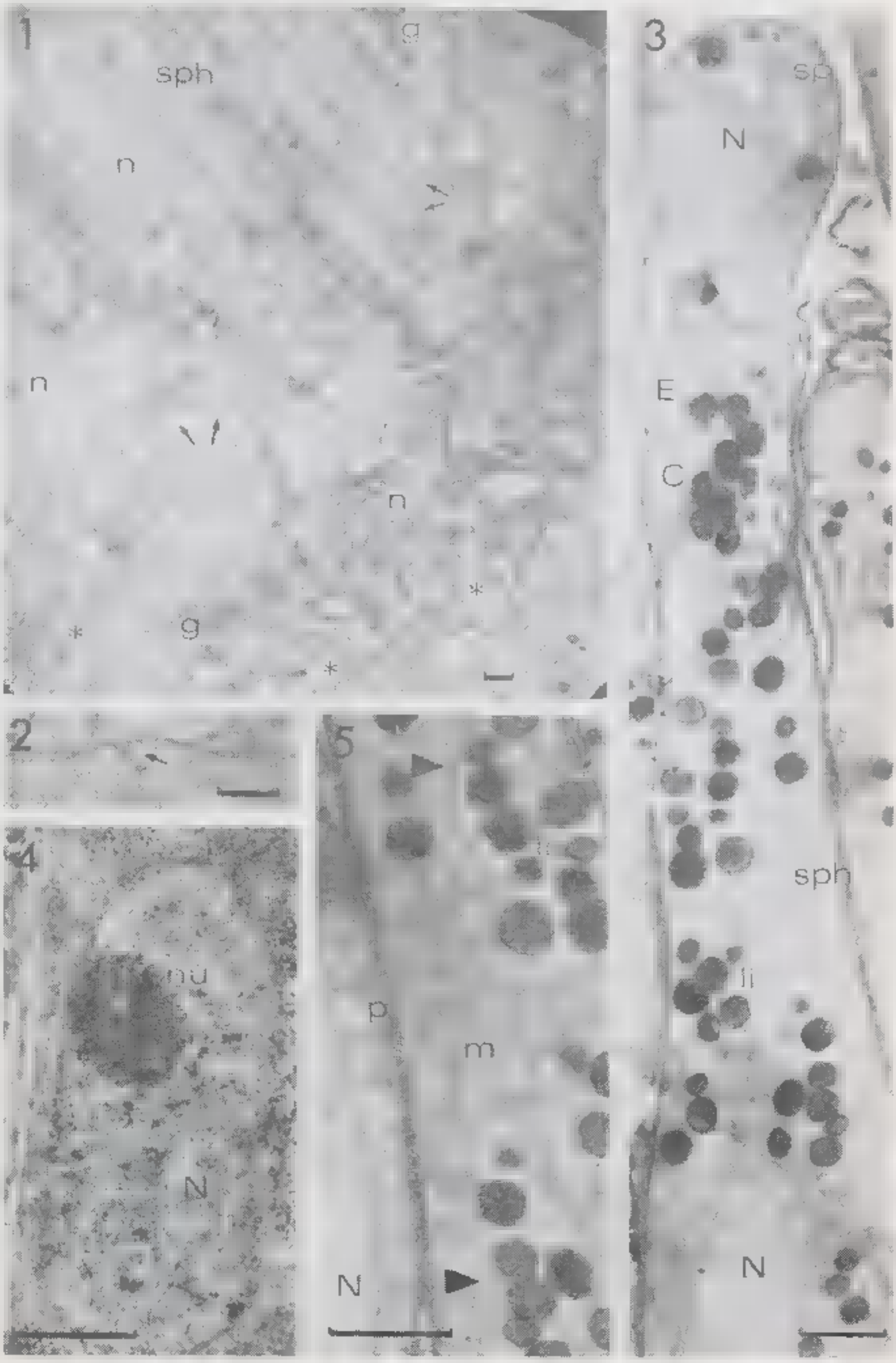
Gymnosporangium cornutum. – 20: Sporophore, collerette et spermatie; remarquer la densité de la chromatine du noyau (Ur, Pb). 21: Deux étapes de la spermatogénèse; à gauche, une ébauche sporogène sans noyau, à droite une spermatie nucléée délimitée par un septum basal; remarquer la différence de structure entre la première collerette et les suivantes (P.A.T.Ag.). 22: Détail d'un sommet d'un sporophore; la collerette externe est plus épaisse et plus longue que les collerettes plus internes (Ur, Pb). 23: Filament flexueux issu du sommet d'un sporophore, entouré de collerettes (P.A.T.Ag.).

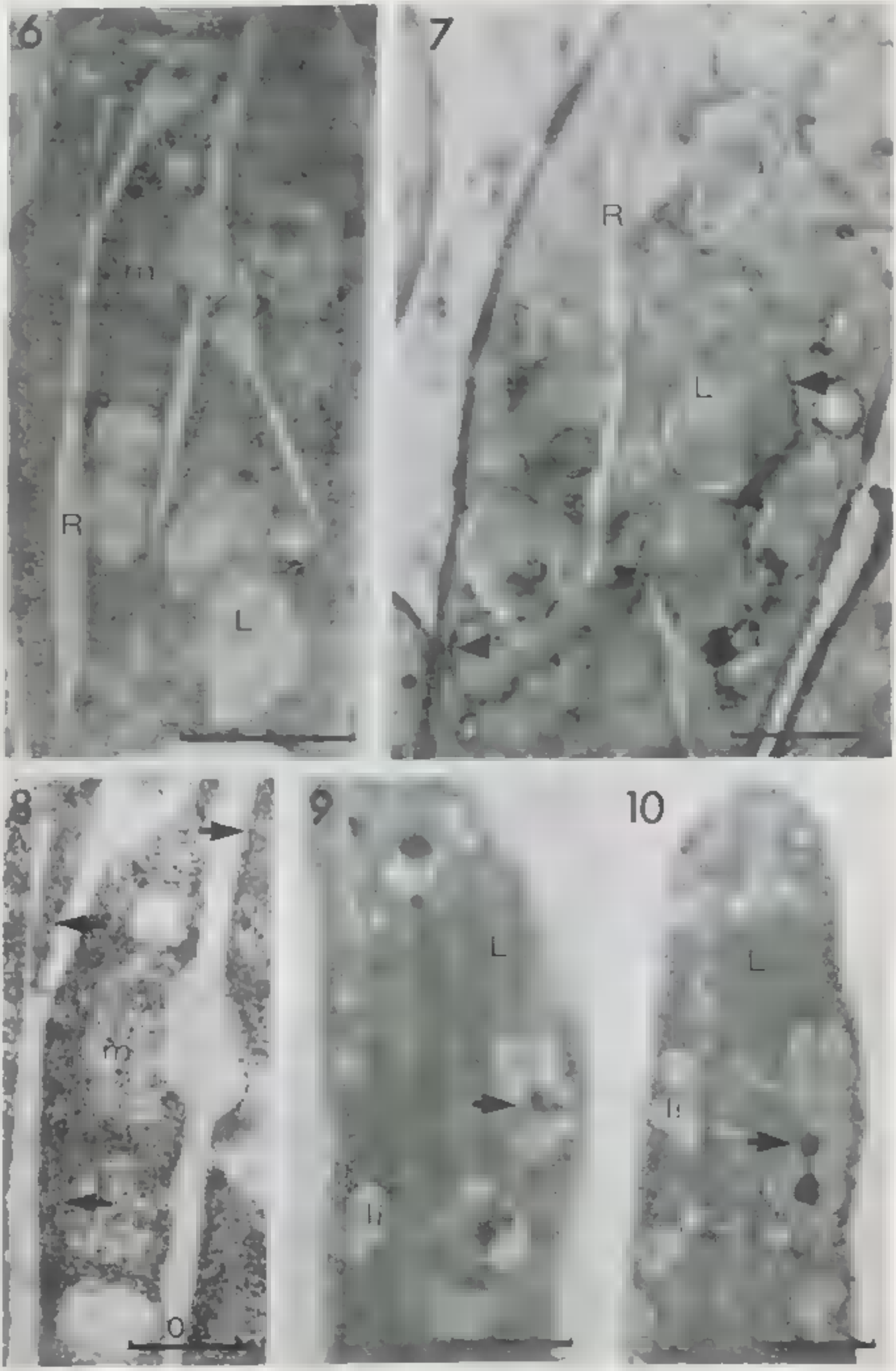
Planche VI

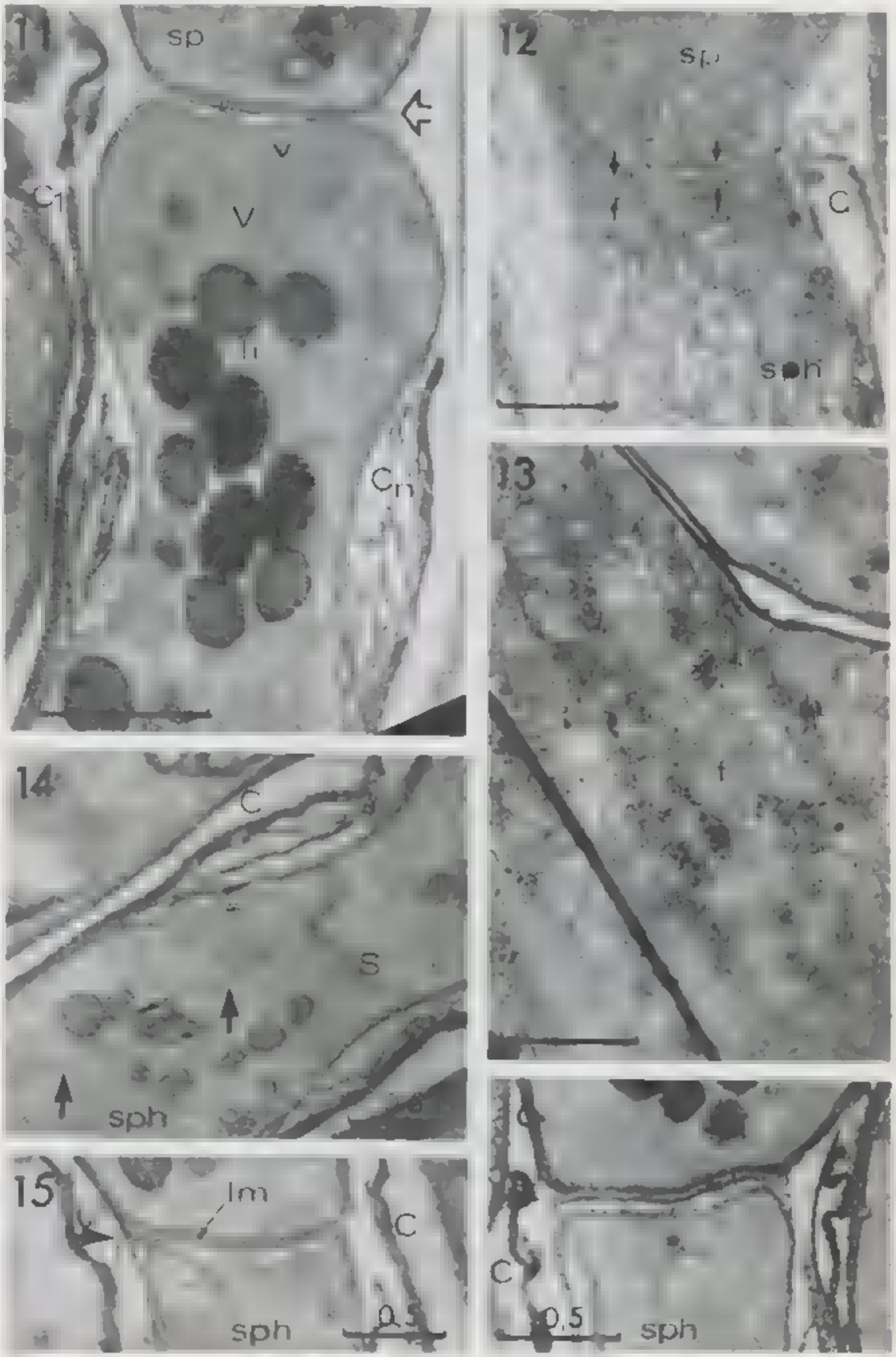
Gymnosporangium cornutum (fig. 24 et 25), et *Uromyces erythronii* (fig. 26 et 27). – 24: Hyphe intrahyphale dans une paraphyse; p 1: paroi du sporophore, p 2: paroi de l'hyphe intrahyphale) (Ur, Pb). 25: Hyphes intrahyphales dans les paraphyses; les flèches indiquent les nombreuses parois emboitées (P.A.T.Ag.). 26: Sporogénèse chez *Uromyces erythronii*; remarquer le noyau basal interphasique du sporophore et le développement d'une ébauche conidiogène repoussant une spermatie; dans l'encart, noter la stratification de la collerette et la sécession de l'ensemble du septum avec la spermatie (flèche) (P.A.T.Ag.). 27: Sporophore âgé; vacuolisation importante du cytoplasme; remarquer aussi l'hétérogénéité des collerettes (P.A.T.Ag.).

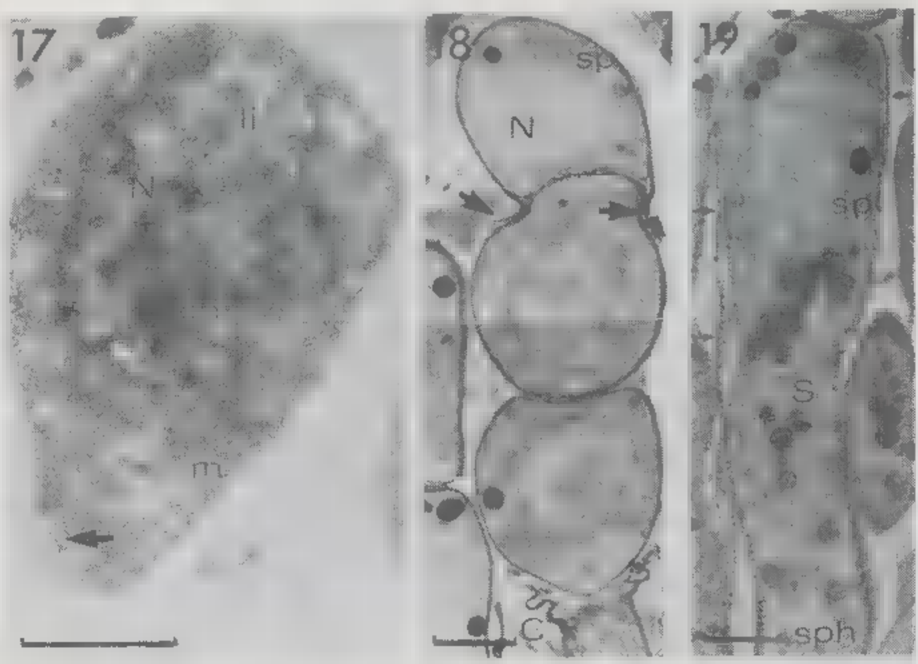
Planche VII

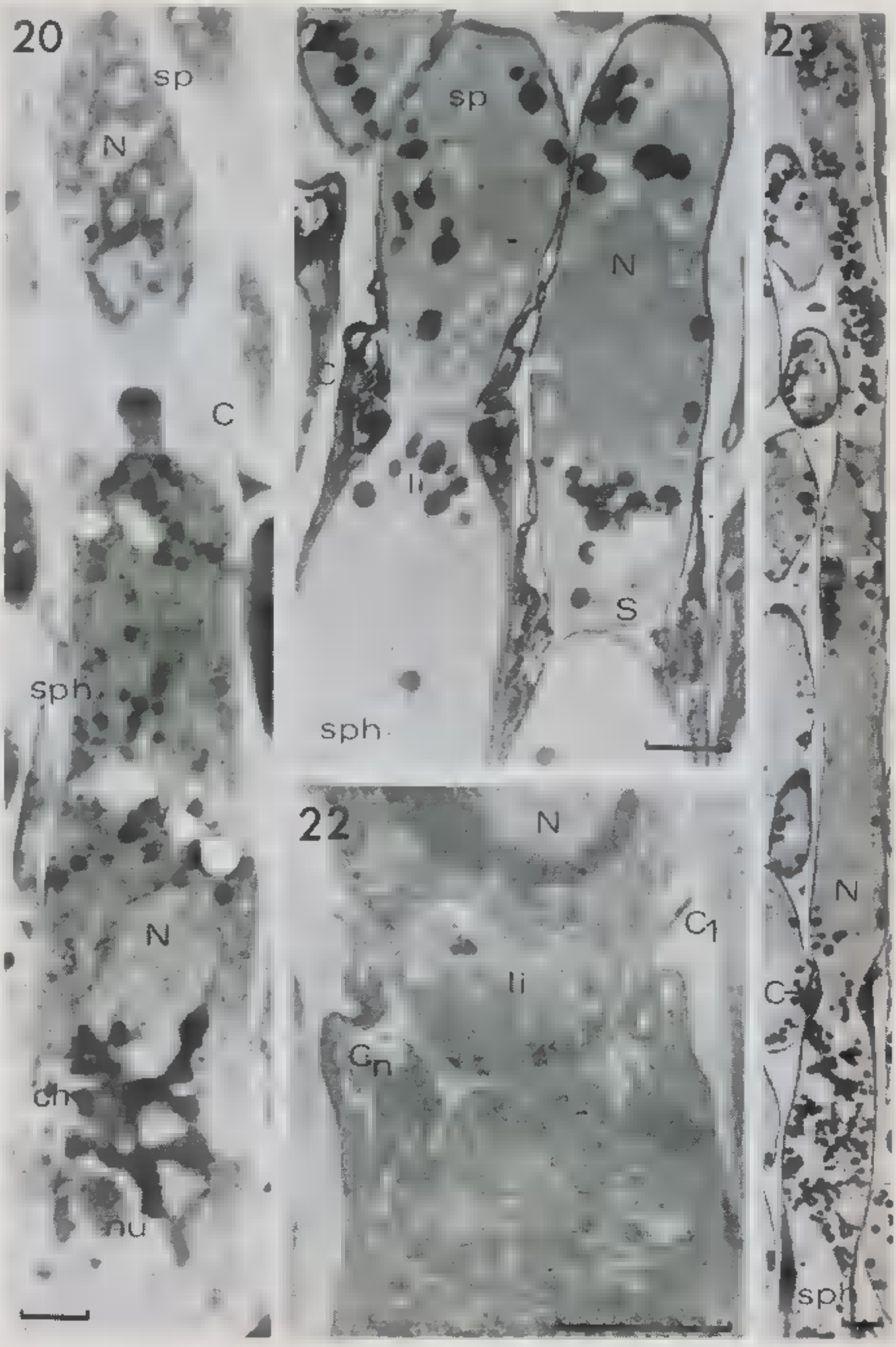
Melampsora rostrupii. – 28: Vue générale montrant la ramification en cyme des sporophores; chaque élément sporogène uninucléé est délimité par un septum; le glycogène et les lipides sont plus abondants vers la base (P.A.T.Ag.). 29: Ébauche sporogène avec microvésicules à l'apex; les différentes collerettes adhérant les unes aux autres forment une seule masse compacte (P.A.T.Ag.). 30: Délimitation d'une spermatie par un septum transversal (P.A.T.Ag.).


1
sph
g
n
n
n
g
*
*
*
2
3
sp
N
E
C
sph
li
N
4
nu
N
5
p
m
N

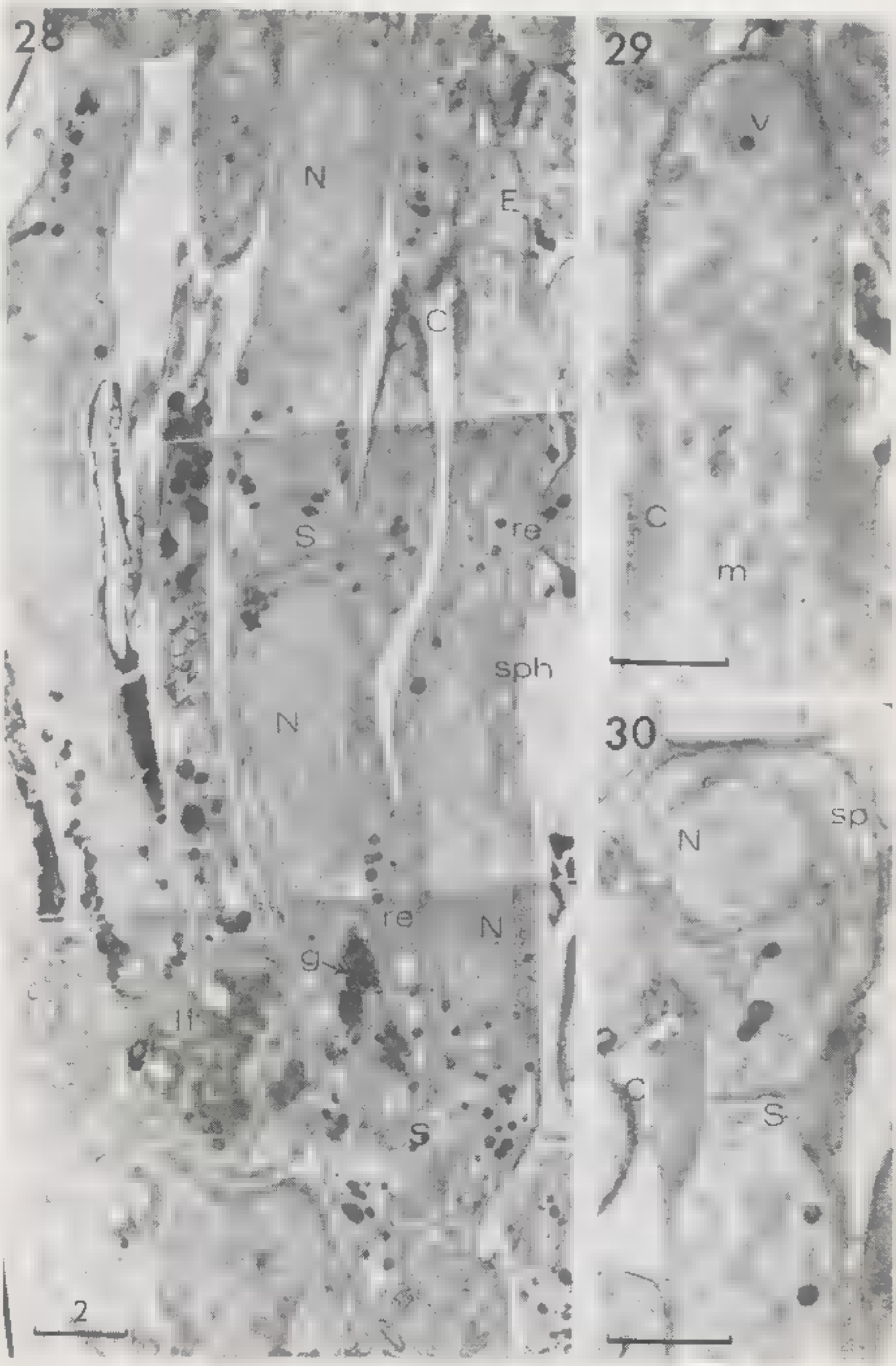

6
m
R
L
7
R
L
8
m
o
9
L
li
10
L
li


11
sp
v
V
12
sp
C
sph
13
f
14
C
S
sph
15
lm
C
sph
0,5
C
0,5
sph


17
li
N
m
18
sp
N
C
19
sp
S
sph


20
sp
N
C
sph
N
ch
nu
sp
N
C
li
S
sph
22
N
C1
li
Cn
N
C
sph


24
p1
p2
S
L
25
P
h.i
P.
26
N
sp.
C
sp
N
2
C
va
m
li
C
E
Cn
sph


28
N
E
C
S
re
sph
N
re
N
g
lf
S
2
29
v
C
m
30
sp
N
C
S